



TITLE:

形状のことなる炭酸カルシウム微粉のアズキゾウムシ成虫にたいする致死作用と,これを担体とした粉剤のイエバエ成虫を落下仰転せしめる効力の相違について。殺虫剤の生物試験にかんする研究。第19報

AUTHOR(S):

長沢, 純夫; 荒川, 正文

CITATION:

長沢, 純夫 ...[et al]. 形状のことなる炭酸カルシウム微粉のアズキゾウムシ成虫にたいする致死作用と,これを担体とした粉剤のイエバエ成虫を落下仰転せしめる効力の相違について。殺虫剤の生物試験にかんする研究。第19報. 防虫科学 1952, 17(1): 14-19

ISSUE DATE:

1952-03-30

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/156728>

RIGHT:

の進むに従つて純化されているにかゝらず、有効抽出分の殺虫効果が劣つて来るのはやはり供試飼料の調製の不備もあると思はれる。今後一考を要する点である。Phrymarol はその分子式を定めることは出来たが未だ試料僅少のため構造決定に至つていないが、種々の呈色反応やデギトニド生成からほステリン系の物質と予想される。なほその分子中には臭素の吸収、テトラニトロメタンによる呈色、過マンガン酸加里の脱色等により二重結合の存在、アセテート生成により水酸基の存在することが知られる。

ステリン系物質の殺虫性については未だ寡聞にして知らないものでその殺虫機構についても今後の研究にまたねばならない。

実験に当り田村太郎、柏司両氏に御助力を得、試料採集に本学演習林大野俊一教授、渡辺博恭、山本竜人両氏の御援助を得た。併せて感謝の意を表する。又種々御教示いただき、且投稿の機会を与へられた京都大学式居三吉教授に厚く謝意を表する。研究費の一部は文部省科学研究費に仰いだ。厚く謝意を表する。

文 献

- (1) 西川義方; 日新医学, 9, 1427 (1920)
- (2) 村瀬三千男; 内外植物原色大図鑑, 127頁 (1944)
- (3) 北原増雄; 岐阜農専学術雑誌, 55号, 1頁 (1946)
- (4) 木村雄四郎; 日本薬劑師協会学術大会講演 (昭和23年10月)
- (5) 山口一孝, 鈴木 猛, 佐々学, 飯田鈴吉; 防虫科学, 15-J, 39(1950), 15-II, 62(1950)
- (6) Hea I, R. E. & Rogers, E. F., Lloydia

(A Quarterly J. of Biol. Sci.), 13, 133, 159 (1950).

(7) 松沢 寛; 防虫科学, 16-III, 143 (1951)

(8) Tschugaev, Chem. Ztg.; 1900, 342.

(9) 刈米達夫, 橋本庸平; 薬学雑誌, 70, 724 (1950)

(10) 長沢純夫, 漆葉千鶴子; 防虫科学, 14, 31 (1949)

résumé

The insecticidal principle of "Haedokuso" *Phryma leptostachya* L. against the common housefly has been contained in the fresh and dry root of the plant (Table I, II) and extracted by organic solvents (Table III, IV). It has contained in the neutral part (Fract. II) but not in acidic (Fract. I) or alkali part of the ether extract and separated from the unsaponifiable matter (Fract. IIa) and purified by the liquid chromatography on the alumina (Fract. IIb).

An insecticidal principle which is seemed a kind of stomach poison against the common housefly has been isolated in a crystalline state as shown in Fig. I and named it Phrymarol.

Phrymarol was fine colorless needles; m. p. 134°C. From analytical data and molecular weight of Phrymarol and its acetate, the empirical formula was determined as $C_{25}H_{42}O$. Judging from its characteristics (Liebermann-Barchard and Tschugaev color reaction positive), it seemed probable that it was a kind of sterine.

On the Relation Between the Particle Shape of Powder of Calcium Carbonate and its Lethal Effect to Adults of the Azuki Bean Weevil (*Callosobruchus chinensis* L.), and the Difference of Knock Down Effect Between DDT Powders Prepared with these Calcium Carbonates to Adults of the Common Housefly (*Musca domestica* L.). Studies on the Biological Assay of Insecticides. XIX. Sumio NAGASAWA and Masafumi ARAKAWA (Takei and Suito Laboratory, Institute for Chemical Research, Kyoto University, Takatsuki, Ohsaka). Received Feb. 10, 1952. *Botyu-Kagaku* 17, 14, 1952. (with English résumé, 19).

4 形状のことなる炭酸カルシウム微粉のアズキゾウムシ成虫にたいする致死作用と、これを担体とした粉剤のイエバエ成虫を落下仰転せしめる効力の相違について。殺虫剤の生物試験にかんする研究。第19報。長沢純夫・荒川正文 (京都大学化学研究所 式居および水渡研究室)。27. 2. 10 受理

I. 緒 言

いわゆる“不活性”物質微粉それ自体の昆虫にたいする致死作用、乃至は、これを担体とする諸種殺虫剤

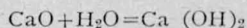
粉体の有効度が、微粉粒子の形状によつて相違することとはやくから指摘せられているところであるが、筆者らもまた炭酸カルシウムの微粉粒子について同様の

事実をこのたびに確かめることができたので、ここにその大要を報告する。

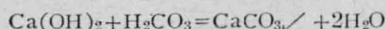
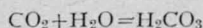
本文にはいるにさきだち、終始御懇篤なる御指導と御援助をたまわつた水渡英二・大野稔両博士と、実験の助力と数値の計算に盡力せられた柴田砂田子嬢に深甚の謝意を表する次第である。なおこの研究は昭和26年度文部省科学研究費の助成にその一部を負っている。銘記して謝意を表したい。

II 実験にもちいた炭酸カルシウム

(1) 製法。本実験に使用した炭酸カルシウムは水酸化カルシウムと炭酸ガスとの反応によって生成したものである。すなわち石灰石を約 1000~1200°C にて焼成してえられた生石灰 (CaO) を蒸溜水で消化して水酸化カルシウム (Ca(OH)₂) とする。



この水酸化カルシウムに炭酸ガスを通じると炭酸カルシウムの沈澱が生ずる。



この時反応温度およびおのおのの濃度を適当にかえると種々のことなつた粒子径、形状をもつた炭酸カルシウムの沈澱がえられる⁽⁴⁾。この実験に使用したのは CaCO₃, S-6 および CaCO₃, U の二種で、その平均粒子径は大体おなじ値をしめすがその分布状態および形状はいちぢるしくことなつている。

(2) 粒子の形状

この2種の炭酸カルシウムの光学顕微鏡および電子顕微鏡写真を、図 1, 2 にしめす。

図 1 は CaCO₃, S-6 の電子顕微鏡写真であつて、その粒子は細長い紡錘形をしめしそのくずれた形のものも多い。

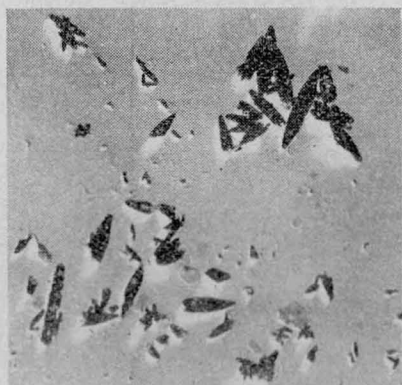


Fig. 1. An electron micrograph of calcium carbonate, S-6. (×2, 000).

Al-shadowing.

この写真は Al-shadowing がほどこしてあるから、その陰影から扁平粒子ではなく巾とおなじ程度の高さをもつ粒子であることも知れる。写真には長さ 6 μ ぐらいのものから数 10 mμ の微粒子までみられる。

図 2 は CaCO₃, U の光学顕微鏡写真であつて、斜方六面体結晶の方解石のよくそろつた 3 μ ぐらいの粒子であることがわかる。

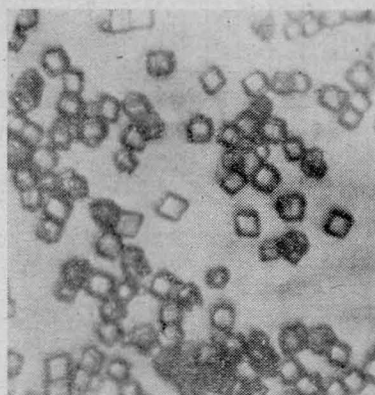


Fig. 2. A photo-micrograph of calcium carbonate, U. (×1, 000).

(3) 粒度分布。この写真から大体の大きさをしることができるが、さらに沈降法⁽⁵⁾によってその粒度分布を測定した。沈降法は天秤をもちいた自動粒度測定器を使用し、水を分散媒としてこれに適量のメタ磷酸ソーダを解膠剤としてくわえた。その結果えられた粒度分布柱状図表は、第3図にしめすとおりである。どちらの炭酸カルシウムも 3 μ と 4 μ のあいだの粒子が最も多いが S-6 より U の方が粒子が均一でこの間の粒子が 58% をしめていることがわかる。

III アズキゾウムシの成虫にたいする致死作用

(1) 供試昆虫。供試昆虫としては、10 数年にわたる累代飼育をへて精選された、生理学的にもまた形態学的にも大体一様の遺伝的性質を有する一系統とみなされる京都大学農学部昆虫学研究室の系統をもちいたこの飼育は温度 30°C、関係湿度 73% の環境条件下において、含水量約 15% 内外の大納言小豆を飼料としておこなわれた⁽⁶⁾。

(2) 実験装置と方法。実験装置・方法とも長沢⁽⁴⁾によつてさきにしるされたところとおなじで、温度 30°C、関係湿度 73% の環境条件下でおこなつた。供試虫数は雌雄それぞれ 300 匹づつをもちいたが、無処理対照区をあわせもうけて実験をおこなうことは、すでに炭酸カルシウム微粉がアズキゾウムシにたいして致死的にはたらく事実を前提にしてあえてこれをしなかつた。なおこの実験は昭和26年11月6日から18日にいたる期間におこなつたものである。

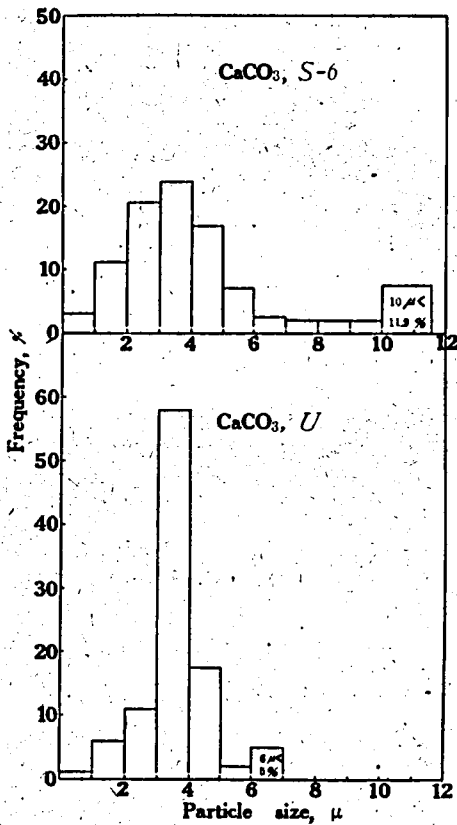


Fig. 3. Histogram representing frequency distribution of particle size of calcium carbonate determined by Suito and Arakawa's automatic recording sedimentation balance. ⁽¹⁵⁾

(3) 実験結果。上述の方法によつてえられた2種の炭酸カルシウム微粉のアズキゾウムシの成虫にたいする致死時間(T)と、累積百分率(Y)との関係を表にしてしめすと第1表のごとくである。

不活性物質微粉によつて惹起される致死率は、これを Bliss の probit 単位におきかえた場合、致死時間の実数にたいして直線の関係にあることはすでに示された⁽¹¹⁾。今回の実験結果にもこの事実は成立するものとかんがえ、二者の関係を Bliss⁽⁹⁾の時間致死率

曲線一次変換の計算方法にしたがつてその回帰方程式 $y = 5 + b(T - \bar{T})$

にもとめた。その結果は第2表のごとくである。ここで \bar{T} は中央致死時間、 b は致死能率、すなわちともむる回帰線の角係数で、その逆数 $1/b = \sigma$ は変換された抵抗性の正規分布曲線の標準偏差である。そしてこの関係を図示したのが第4図である。

Table 2. Characteristics of the time-mortality regression lines of adults of the azuki bean weevil (*Callosobruchus chinensis* L.) for the powder of different two particle shapes of calcium carbonate.

Code letter of particle shape	Sex	Standard deviation σ	Regression coefficient $b = 1/\sigma$	Median lethal time \bar{T} (day)
S-6	♀	0.92459	1.08156	5.04000
	♂	0.96853	1.03249	3.92667
U	♀	0.85126	1.17473	5.77333
	♂	0.90469	1.09535	4.34333

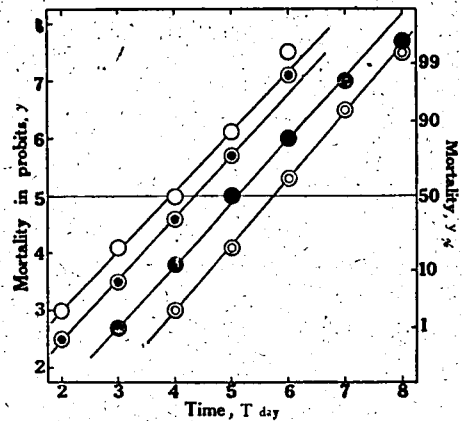


Fig. 4. Time-mortality regression lines of adults of the azuki bean weevil (*Callosobruchus chinensis* L.) for the powder of different two particle shapes of calcium carbonate. (left to right: S-6, ♂; U, ♂; S-6, ♀; U, ♀).

Table 1. Time- T (day) per cent mortality Y data of adults of the azuki bean weevil for the powder of different two particle shapes of calcium carbonate.

Code letter of particle shape	Sex	Number of individuals	Time T (day)								
			1	2	3	4	5	6	7	8	9
S-6	♀	300	0.33	0.67	1.00	11.33	51.67	84.67	97.67	99.67	100.00
	♂	300	0.00	2.33	18.33	51.67	85.67	99.33	100.00		
U	♀	300	0.00	0.33	1.00	2.33	17.00	61.33	92.67	99.33	100.00
	♂	300	0.33	0.67	7.00	35.00	76.00	98.00	100.00		

IV イエバエ成虫を落下仰転せしめる効力

(1) DDT 粉剤の調製。 p, p' -DDT (mp. 107°~108°) のみを乳鉢で磨碎し、325 メッシュの Tyler の標準篩を通過せしめた後炭酸カルシウムとともに乳鉢中で機械的に混合して 5% 粉剤とした。

(2) 供試昆虫。供試イエバエは京都大学化学研究所武居研究室の系統で、さきのアズキゾウムシと同様の処理をほどこしてえられ、標準の条件下で飼育された一群である。実験には羽化後 4~5 日をへた個体をもちいた。

(3) 実験装置と方法。実験装置、方法ともまた長沢・高野⁽¹²⁾によつてしるされたところと、処理薬量を 0.1 g とした以外は大体おなじである。なおこの実験は 1951 年 11 月 15 日温度 23°C の定温室中でおこなつた。

(4) 実験結果。粒子の形のことなつた炭酸カルシウムを担体とした p, p' -DDT 5% 粉剤 2 種の処理時間 (T) と、致落下仰転虫数率 (Y_K) との関係を表示すると第 3 表のごとくである。第 3 表の実験結果を Table 3. Time T (min.) - percent knock down Y_K data of adults of the common house fly (*Musca domestica* L.) for the 5% p, p' -DDT powder prepared with the powder of different two particle shapes of calcium carbonate.

Code letter of carrier		S-6	U
Number of experiments		- 5	5
Number of individuals		114	119
Time, T	4	0.00	0.00
	6	0.88	2.52
	8	2.63	3.36
	12	14.91	11.77
	16	36.84	32.77
	24	62.28	54.62
	32	79.83	69.75
	48	92.98	89.08
	64	98.25	95.80

Bliss⁽⁶⁾ の probit 法によつて整理すると第 4 表に示したような結果をえる。ここで b は時間 T を対数

Table 4. Characteristics of the time-knock down regression lines of adults of the common house fly (*Musca domestica* L.) for the 5% p, p' -DDT powder prepared with the powder of different two particle shapes of calcium carbonate.

Code letter of carrier	Standard deviation σ	Regression coefficient $b=1/\sigma$	Log median knock down time \bar{t}	Median knock down time T (min)
S-6	0.23288	4.29414	1.31130	20.48
U	0.26589	3.76128	1.35438	22.61

t , 致落下仰転虫数率 Y_K を probit y_K に変換してもとめた時間-致落下仰転虫数率回帰線の方程式

$$y_K = 5 + b(t - \bar{t})$$

の傾系数, すなわち致落下仰転虫数能率で, その逆数 $1/b = \sigma$ は変換された抵抗性の正規分布曲線の標準偏差である。 \bar{t} は中央値で, 致落下仰転虫数率分布曲線のモードの値の対数, その逆対数値 $T = \log^{-1} \bar{t}$ は中央致落下仰転時間である。なおこの関係を図示したのが第 5 図である。

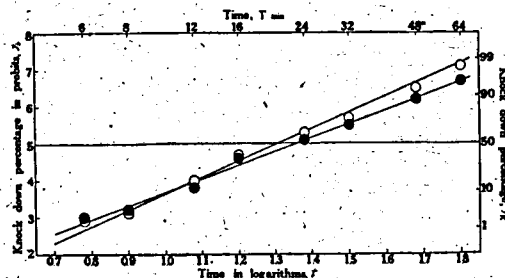


Fig. 5. Time-knock down regression lines of adults of the common house fly (*Musca domestica* L.) for the 5% p, p' -DDT powder prepared with the powder of different two particle shapes of calcium carbonate. (Black circles, U; Empty circles, S-6).

V 考 察

第 II 節においてこの実験にもちいた炭酸カルシウム S-6 は細長い針錐形をしめし、巾とおなじ程度の高さをもつ粒子であるのに反し、U は斜方六面体結晶を呈すること、ならびにこれらの粒度分布のモードの値は両者ともにひとしいが、後者の方がその粒度は比較的統一であることをのべた。第 2 表の結果ならびに第 4 図にみられるように S-6 は U にくらべてあきらかにアズキゾウムシにたいする致死作用は大きい。この結果は雌雄ともにおなじである。現在不活性物質微粉の昆虫にたいする致死作用機構は、微粉粒子の有する crystalline forces が昆虫の表皮角 (epicuticle) を傷つけて、水分にたいする表皮角の不透過性を破壊するため、体内の水分が外部に放散して二次的に

乾燥枯死するものであるという説が一般に支持されている。(1, 2, 3, 4, 6, 9, 13, 16, 17, 18, 19) このことから crystalline forces の多い粒子の方がこうした abrasive effect をおこす機会が多いことは容易にしりうるところで、S-6 の方が U より有効であることも理解が可能である。Wiglessworth⁽¹⁷⁾ は石英の微粉が alumina の微粉よりも昆虫にたいする致死効力が低く、slate の微粉はなお効力が少ないことをあげ、alumina の微粉をつけた紙を指の先ですると非常にこまか

い sand paper のように感ずるが、石英の微粉はこの感じがやや少く、slate の微粉はなおなめらかな感じをあたえることをのべ、微粉の有する crystalline forces が致死の主原因であることを示唆している。つぎに S-6 を担体とした *p,p'*-DDT 粉剤の方が U を担体としたそれよりもイエバエの成虫を落下仰転せしめる効力がたかいという第 IV 節の結果は、abrasion の力の大きい微粉の方がその力の小さい微粉より自然、毒剤が体内へ侵入することを容易ならしめているためであると解釈して間違ひなからう。微粉の abrasive effect により殺虫剤の体内への侵入が容易になる事実は、サシガメの 1 種 *Rhodnius* の 5 齢の仔虫について証明されている⁽¹⁷⁾すなわち蒸溜水で 2% に薄めたニコチンを健全な *Rhodnius* に塗布すると 6 時間でわづかに影響があらわれ、24 時間になると悪い微候がみえてくるが、alumina でその背部をわづかに rubbed しておくと、20 分ですでに元気がなくなり、歩行も充分できなくなることが観察されている。ロテノールの粉剤についても健全な昆虫は 3 週間後もそのままであるが、あらかじめ微粉ですりきずをつけておくと 8 時間以内で衰弱があらわれ 24 時間たないうちに死滅することを観察し、粉剤に abrasive effect のつよい粉体を混入することは、殺虫剤の有効度をたかめるによい方法であると暗示している。この問題は Campau and Wilson のによつても検討されロテノールの稀釈剤の最も重要な要因は、粒子の形状、大きさ、硬度と密に関連したもののようであるとのべられてゐる。Wilson & Jones⁽¹⁸⁾ もまたある担体が有効である担体があり効果的でない理由を明快に説明することはできないが、粒子の形状と化学的組成が最も重要なようであるとし、Wilson et al.⁽¹⁹⁾ はロテノール粉剤の担体として繊維状のタルクは薄片状のタルクよりあまりよくないと報告、Turner もまた繊維状のタルクおよびクレイは、ロテノールの稀釈剤として Pyrophyllite よりきかないことを発見している、同様に Jones & Wilson⁽²⁰⁾ もまたタルクはすべてロテノールの分散剤として貧弱なものであることをのべている。

以上の実験結果は、われわれが殺虫粉剤の担体をえらぶ際にとくに考慮しなければならないひとつの性質を明示したものであるが、ただ実際使用の面においてこの性質がどこまで大きな weight をもつてその製品を価値づけるかは、使用の対象となる昆虫、保護をくわえようとする動植物、乃至はその時の環境条件などに支配されて変つてくるため、一概にこれをきめないことに注意しなければならない。担体それ自体の致死効果乃至主剤にあたえる補助効果が、実際使用の場合は複雑に相関して、ひとつの有効度としてあ

らわれてくるため、ひとつの性質を大きくとりあげてその担体の優劣をきめようとすることは当をえたものとはいへない。やはり一応これを生物試験にかけて、有効度としてあらわれたその数値から総合的な価値判断をなすべきであるとかんがえられる。そうした見解をとるならば、やはりここに必要とされるのは公定の標準担体を設定することで、これを比較の基準として優秀な担体を検出する方向にむかうべきであろう。

VI-摘 要

- (1) 巾とおなじ程度の高さをもつ細長い紡錘形をした炭酸カルシウムの微粉 (S-6) は、斜方六面体結晶を呈するそれ (U) よりもアズキゾウムシにたいする致死効果が大きい。
- (2) これらを担体とする効力は *p,p'*-DDT 5% 粉剤のイエバエの成虫を落下仰転せしめる S-6 の方が U に比して高い。
- (3) 微粉の有する crystalline forces は昆虫にたいする abrasive effect を増大し、表皮の体水分保持機能を破壊するとともに、毒剤の体内侵入を容易ならしめるものと考えられる。
- (4) 優良担体の選択は、殺虫粉剤の製造の際考慮しなければならない重要な事項であるが、複雑なる諸性質の総合された担体の優劣は、実際使用のそれとできうるかぎり近い条件下において生物学的見地から決定すべきものである。
- (5) 優良担体検出のために公定の標準試験用担体の設定はまたのぞましいものと考えられる。

VII. 引用文献

- (1) Alexander, P., Kitchener, J. A. & Briscoe, H. V. A. (1944)-Ann. App. Biol. 31: 143-149.
- (2)(1944)-Ann. App. Biol. 31: 150-156.
- (3)(1944)-Ann. App. Biol. 31: 156-159.
- (4) Beament, J. W. L. (1945)-Jour. Exp. Biol. 21: 115-131.
- (5) Bliss, C. I. (1937)-Ann. App. Biol. 24: 81-85.
- (6) Briscoe, H. V. A. (1943)-Jour. Roy. Soc. Arts. 91: 593-607.
- (7) Campau, E. J. & H. F. Wilson (1944)-Soap 20 (10): 117-121.
- (8) Jones, R. L. & H. F. Wilson (1944)-Soap 20 (9): 107-111.
- (9) Kalmus, H. (1944)-Nature 153: 714-715.
- (10) 長沢純夫 (1947)-防虫科学 7: 8-9: 38-44.
- (11)(1950)-防虫科学 15: 79-85.

- (12) 長沢純夫・高野武之助 (1940)-防虫科学 15 : 46-53.
 (13) Parkin, E. A. (1944)-Ann. App. Biol. 31 : 84-88.
 (14) 水渡英二・荒川正文 (1949)-京都大学化学研究所講演集 18 : 117-119.
 (15) (1950)-京都大学化学研究所報告 22 : 7-17.
 (16) Wiglessworth, V. B. (1944)-Nature 153 : 493-494.
 (17) (1945)-Jour. Exp. Biol. 21 : 97-114.
 (18) (1946)-Experimentia 2 : 1-14.
 (19) (1947)-Proc. Roy. Ent. Soc. London A. 22 : 65-69.
 (20) Wilson, H. F. & R. L. Janes (1942)-Soap 18 : 103-105.
 (21) Wilson, H. F., C. E. Dieter & H. L. Burdick (1941)-Soap 17 : 99-101.

Résumé

The lethal effect of powder of slender spin dle

shaped calcium carbonate (S) having same width and height to adults of the azuki bean weevil (*Callosobruchus chinensis* L.) is greater than that of the powder of oblique hexahedral crystal line shaped calcium carbonate (U). The knock down-effect of *p, p'*-DDT powder prepared with the former calcium carbonate to adults of the house fly (*Musca domestica* L.) is greater than that of the latter calcium carbonate. It is considered that the cuticle impermeability to water is destroyed by the abrasive action of crystalline forces of dust and these abrasion consequently allow the penetration of poison into the body system. Fine carrier for the insecticidal powder must be selected at the biological point of view and for searching these carriers it is very desirous to establish the official control carrier.

On the Correlation Between the Mortality and the Wheat Germination by BHC Dust. Genji KOBAYASHI. King Jochugiku Kogyo Co., Ltd. Agricultural Chemicals Experiment Station) Received Feb. 28. 1952. *Botyu-Kagaku* 17, 19. 1952 (with English résumé, 27)

5. BHC 粉剤の殺虫効力と小麦の発芽伸長率との相関について 小林源次 (キング除虫菊工業株式会社農薬試験場) 27.2.28 受理

現在 BHC の殺虫力については、もっぱらその γ -異性体の含有量によつて有効濃度を指示している。それでこの有効成分が貯蔵中に減退するか否かについて、筆者は貯蔵せる BHC 粉剤を用いて殺虫効力の比較実験を試みた。その殺虫力は貯蔵期間による場合よりも、製品個体による差異があまりにも大きかつたところから、各種の実験を繰返して行つた結果、本剤が小麦の発芽伸長に対して非常に敏感であつて、その影響は殺虫率との間に高い相関があることを知つた。さらに各種の製品及種々の BHC 原末より調整した同一 γ 濃度の粉剤についても繰返し各種の害虫に対して実験を試みたところが、いずれも相関の有意性が高いことを認め、その他の関係についても注目すべき事項が覗がわれた。

粉剤としての密度、担体の種類、割合、混合法などによる物理的性状についても、なお検討を加える必要があるけれども、今日までの経過と成績の概況を記して、先輩諸士の御批判と御教示を仰ぐ次第である。

本実験を行うに際して各社製品の試料を提供下さつ

た、和歌山県農事試験場技師片山眞吾氏、BHC の γ 濃度測定及び各種試料の製剤に協力された当社研究室各員、及び生物実験に助力せられた当場研究員の各位に深謝の意を表する。

第 1 実験 BHC 粉剤 (γ : 0.5%) の混入量と小麦の発芽伸長関係

BHC のいづれの異性体が、どの程度の薬害作用を現わすものであるか詳らかでないが、大体 γ 及び δ 異性体であることは、ほぼ知られたことである。それで一般に使用されている BHC 粉剤 (γ : 0.5%) が、小麦の発芽伸長にいかなる程度の作用を示すものであるかについて、予備的に実験を試みた。

実験方法

供試植物 小麦 (農林 56 号)

供試粉剤 キング BHC 0.5% 粉剤 (BHC 原末 γ : 12.0%) 昭和 25 年 8 月 24 日製造

実施期日 昭和 25 年 10 月 5 日播種、同年 10 月 10 日調査

実施方法 直径 15cm のシャーレを用い、水洗、乾